

(19) HU

MAGYAR
NÉPKÖZTÁRSASÁGORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATALSZABADALMI
LEÍRÁS

(11)

193048 (13)E

(22) A bejelentés napja: 83.09.30. (21) 3420/83
(89) Származási ország: 231.228.CS.(33) CS: —
(32) 82.10.01.
(31) (PV 7013—82)(41) (42) A közzététel napja: 1984. aug. 28.
(45) Megjelent: 1988.jun.6.(51) Int. Cl.
C 07 K 5/08; 5/10
//A 61 K 37/02(72) Feltalálók:
Kasafirek Evzen, dr. Fric Premysl,
dr. Slaby Jan, Roubalová Alena,
Prága, CS(73) Szabadalmas:
Spofa, Prága, CS

(54) ELJÁRÁS BIOLÓGIAILAG HATÁSOS
TRI- ÉS TETRAPEPTID-ALKIL-AMID-
-SZÁRMAZÉKOK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

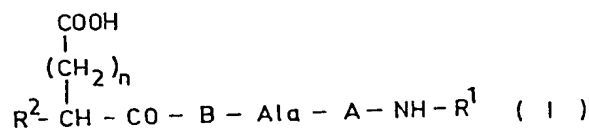
(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás biológiailag határos tri- és tetrapeptid-alkil-amid-származékok előállítására. A találmány szerinti vegyületek (I) általános képletében

R^1 jelentése 1—5 szénatomos alkilcsoport;
A jelentése peptidkötésben lévő alanin- vagy prolincsoport;
B jelentése peptidkötésben lévő glicin-, alanin- vagy prolincsoport;
n értéke 1 vagy 2; és
 R^2 jelentése 1—12 szénatomos (alkil-karbonil)-amino-csoport vagy dodecenil-csoport vagy (benzil-oxi-karbonil-amino)-csoport.

Az (I)-általános képletű vegyületeket a találmány értelmében úgy állítják elő, hogy egy (II) általános képletű vegyületet — ahol R^1 , A és B jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben — egy (III) általános képletű vegyülettel — amelyben R^2 és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, és R^3 1—4 szénatomos alkilcsoportot vagy 7 szénatomos aralkilcsoportot jelent — kondenzálnak, majd az így kapott (IV) általános képletű vegyületből — amelyben R^1 , R^2 , A, B és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, és R^3 jelentése ugyanaz, mint az (III) általános képletben — az R^3 védőcsoportot eltávolítják.

A találmány szerinti vegyületek az elasztáz enzimet gátolják, és így alkalmasak hasnyálmirigygyulladás, légúti elzáródásokkal járó tüdőbetegségek és ízületi gyulladások kezelésére.



A találmány biológiaiilag hatásos tri- és tetrapeptid-alkil-amid-származékok és ilyen vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására vonatkozik. Közelebről, a találmány tárgya eljárás az (I) általános képletű peptid-alkil-amid-származékok előállítására, ahol a képletben

R¹ jelentése 1—5 szénatomos alkilcsoport;
A jelentése peptidkötésben lévő alanin- vagy prolincsoport;

B jelentése peptidkötésben lévő glicin-, alanin- vagy prolincsoport;

n értéke 1 vagy 2; és

R² jelentése 1—12 szénatomos (alkil-karbonil)-amino-csoport vagy dodecenilcsoport vagy (benzil-oxi-karbonil-amino)-csoport.

A 226 907 számú CS. szabadalmi leírásban (szerzői tanúsítványban) — amely peptidjellegű, elasztolízist gátló vegyületekre vonatkozik — igazolták, hogy ezeknek az anyagoknak az elasztáz enzimmel fennálló elektrosztatikus kölcsönhatása az enzimgátlás szempontjából jelentős. Megállapították, hogy ennek az elektrosztatikus kapcsolatnak a helye mind a gátló anyagokban, mind a szubsztrátumokban a molekula N-terminális végén lokalizálható (Eur. J. Biochem. 69, 1/1976/; FEBS Lett. 40, 353 /1974/). Ez a kölcsönhatás dikarbonsavcsoportok — például borostyánkősav- vagy glutársavcsoportok — útján jön létre.

Az aszparagin- vagy glutaminsavcsoportnak a gátló vegyületek peptidláncainak

N-terminális végére való beépítésével ugyanúgy el tudtuk érni az elektrosztatikus kölcsönhatást, mint a dezaminoszarmazékok — azaz a borostyánkősav- vagy glutársavcsoport esetében. Abból a célból, hogy a karboxilcsoport anionos kötését a jelenlévő alfa-aminocsoport — intramolekuláris közömbösítés következtében — ne gyengítse, az aminocsoport befolyását acil-szubsztitúcióval küszöböltük ki. Meglepő módon azt találtuk, hogy az inhibitor molekula N-terminális végén a karboxilcsoport szomszédságában egy hidrofób csoport bevittele az anionos jellegű inhibitor gátlóképességét erősen fokozza. A K_i (gátlási állandó) ilyen potenciozása nincsen korlátozva az acilezett aszparagin- vagy glutaminsavcsoportra; a borostyánkősav- vagy a glutársav alkenil-származékai hasonló hatást fejtenek ki.

Az anionos jellegű elasztáz-gátlóknak ez az új típusa — amely beépített N-acilezett aszparagin- vagy glutaminsavcsoportokat, vagy borostyánkősav- vagy glutársav-alkenil-származékokat tartalmaz az inhibitor molekula N-terminális végén — jól modellezi az elasztáz enzim természetes szubsztrátumát, azaz az elasztint. Ismeretes, hogy az elasztin jelentős mennyiségű savanyú és hidrofób aminosavat tartalmaz. Ezek az anyagok in vitro kísérletekben erősen gátolják a hasnyálmirigyből és a leukocitákból származó elasztázt; ennek eredményeit az 1. táblázatban foglaltuk össze.

1. Táblázat

A találmány szerinti elasztáz-gátló vegyületek
gátlási állandói (K_i)

| Gátló anyag | PE | K _i (mmol) | LE |
|----------------------------|--|-----------------------|--------|
| | Glt-/Ala/ ₄ -NAn Glt-/Ala/ ₃ - Suc-/Ala/ ₄ -NAn -Val-NAn | | |
| Ac-Asc-Ala-Ala-Pro-NH-iBu | 0,12 | | 0,191 |
| | 0,19 | | |
| Ac-Asp-Pro-Ala-Ala-NH-Et | 0,034 | | 1,0 |
| | 0,025 | | |
| Btr-Glu-Ala-Ala-Pro-NH-Pr | 0,193 | | 0,18 |
| | 0,178 | | |
| Btr-Asp-Ala-Ala-Pro-NH-iBu | 0,12 | | 0,136 |
| | 0,12 | | |
| Dde-Ala-Ala-Ala-NH-Et | 0,0018 | | nincs |
| | 0,0025 | | gátlás |
| Dde-Ala-Ala-Ala-NH-iBu | 0,093 | | 0,515 |
| | 0,099 | | |
| Dde-Ala-Ala-Pro-NH-Pr | 0,0006 | | 0,10 |
| | 0,0005 | | |
| UDA-Asp-Ala-Ala-Pro-NH-Et | 0,0054 | | 0,012 |
| | --- | | |
| Z-Glu-Ala-Ala-Ala-NH-Et | 0,173 | | 0,72 |
| | 0,028 | | |

A táblázatban használt rövidítések:

Suc=szukcinil, azaz 3-karboxi-propionil;
Glt=glutaril, azaz 4-karboxi-butiril; NAn=
=4-nitro-anilid; Ac=acetyl; Btr=butiril;
Dde=2-dodecenil-szukcinil; UDA=undeka-
noil; Et=etil; Pr=propil; iBu=izobutil;
Z=benzil-oxi-karbonil; PE=hasnyálmirigy-
-elasztáz; LE=leukocita-elasztáz.

E bejelentésünkben leírt gátló vegyü-
letek nemtermészetes csoportokat nem tar-
talmaznak, és így terápiás alkalmazásuk
során — különösen a heveny hasnyálmirigy-
gyulladás, krónikus, légúti elzáródással
járó tüdőbetegség és egyes gyulladások
kezelése során — nemkívánt mellékhatások
nem várhatók.

Az (I) általános képletű, biológiailag
hatásos tri- és tetrapeptid-alkil-amid-szár-
mazékokat például úgy állíthatjuk elő, hogy
egy (II) általános képletű vegyületet — ahol
 R^1 , A és B jelentése ugyanaz, mint az (I)
általános képletben — egy (III) általános
képletű vegyülettel — amelyben R^2 és n
jelentése ugyanaz, mint az (I) általános
képletben, és R^3 1—4 szénatomos alkilcso-
portot vagy 7 szénatomos aralkilcsoportot
jelent — kondenzálunk, majd az így kapott
(IV) általános képletű vegyületből — amely-
ben R^1 , R^2 , A, B, és n jelentése ugyanaz,
mint az (I) általános képletben, és R^3 jelen-
tése ugyanaz, mint a (III) általános kép-
letben — az R^3 védőcsoportot eltávolítjuk.

A találmány szerint úgy is járhatunk,
hogy egy (II) általános képletű vegyüle-
tet — ahol R^1 , A és B jelentése ugyanaz,
mint az (I) általános képletben — egy (V)
általános képletű vegyülettel — amelyben
n értéke ugyanaz, mint az (I) általános
képletben, R^3 jelentése ugyanaz, mint a (III)
képletben, és Y védőcsoportot jelent — kon-
denzálunk, és az így kapott (VI) általános
képletű vegyületből — ahol R^1 , A, B és n jelen-
tése ugyanaz, mint az (I) általános képlet-
ben, R^3 jelentése ugyanaz, mint a (III) álta-
lános képletben, és Y jelentése ugyanaz, mint
az (V) általános képletben — a védőcso-
portot eltávolítjuk, és az így nyert közben-
ső terméket egy (VII) általános képletű vegyü-
let — amelyben R^2 jelentése a dodecenil-
csoportot kivéve ugyanaz, mint az (I) álta-
lános képletben — reakcióképes karbonsav-
származékával, előnyösen az anhidridjével,
halogenidjével vagy észterével reagáltatjuk.

A találmány-értelmében még úgy is eljár-
hatunk, hogy egy (VI) általános képletű
vegyületet — ahol R^1 , A, B és n jelentése
ugyanaz, mint az (I) általános képletben,
 R^3 jelentése ugyanaz, mint a (III) általános
képletben és Y jelentése ugyanaz, mint az
(V) általános képletben — az R^3 és Y védő-
csoportok eltávolítása után egy (VII) álta-
lános képletű vegyület — amelyben R^2 je-
lentése dodecenilcsoportot kivéve ugyanaz,
mint az (I) általános képletben — vala-
milyen reakcióképes karbonsavszármazékával,

különösen az anhidridjével, halogenidjével
vagy észterével reagáltatunk.

A találmány szerinti eljárás egy további
megvalósítása szerint úgy is járhatunk,
hogy egy (II) általános képletű vegyületet —
ahol R^1 , A és B jelentése ugyanaz, mint az
(I) általános képletben — egy (VIII) álta-
lános képletű vegyülettel — amelyben R^2 és n
jelentése ugyanaz, mint az (I) általános
képletben — előnyösen anhidridje, monohalo-
genidje vagy észtere alakjában konden-
zálunk.

A találmány szerinti, biológiailag aktív
peptidek szintézisét lényegében a fragmen-
tumok kondenzációja útján oldatban, vagy az
aminosavak lépésenkénti beépítésével, tehát az
úgynevezett „stepwise” módszerrel hajtjuk
végre; a szintézist azonban szilárd hordozón
is megvalósíthatjuk.

A találmány szerinti eljárásban a közben-
ső termékek védőcsoportjaként uretán-típusú
csoportot — például a (benzil-oxi-karbonil)-
-csoportot — alkalmazunk; használhatunk
azonban gyengén savas lehasítható csoporto-
kat — például a tercier-butoxi-karbonil-
vagy az (o-nitro-benzol-szulfenil)-csopor-
tot — is; valamint alkalmazhatunk fémmel,
adott esetben elektrolízissel redukálható
csoportokat — például (2-halogén-etil-oxi-
-karbonil)-csoportot — is.

A kondenzációs reakciókat az azid-,
karbodiimid- vagy a vegyes anhidrid-mód-
szerrel hajtjuk végre. Alkalmazhatunk azon-
ban bármilyen más, a peptidszintézisben
használatos módszert is.

A találmány szerinti eljárást az alábbi
kiviteli példákban részletesen ismertetjük.

1. példa

N-Acetil-aszparagil-alanil-alanil-prolin-
-(izobutil-amid)- β -benzil-észter előállítás
530 mg (2 mmól) N-acetil-aszparagin-
sav- β -benzil-észter és 630 mg (2 mmól) ala-
nil-alanil-prolin-(izobutil-amid) 20 ml di-
metil-formamiddal készült oldatát -20°C -ra
hűtjük, és 440 mg N,N'-diciklohexil-kar-
bodiimidet adunk hozzá. Az elegyet 3 órán
keresztül 0°C hőmérsékleten keverjük,
utána 12 órán át szobahőmérsékleten állni
hagyjuk, a kicsapódott N,N'-diciklohexil-
-karbamidot kiszűrjük, dimetil-formamid-
dal mossuk, és a szűrletet vákuumban bepá-
roljuk. A maradékot 8 ml etil-acetátban
 30°C hőmérsékleten oldjuk, az oldatban
maradékot kiszűrjük, és 2 ml acetáttal
mossuk. A szűrletet 12 órán át 3°C hőm-
sékleten állni hagyjuk, és a kivált kristályos
terméket kiszűrjük. Így 540 mg (45%) ho-
zammal kapjuk a cím szerinti vegyületet,
op.: $176-179^\circ\text{C}$.

Elemenálízis a $\text{C}_{28}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_8$ összegképlet
alapján ($M=559,7$):

számított: C 60,09; H 7,38; N 12,51 %;
kapott: C 59,78; H 7,47; N 12,54 %.

N-Acetil-aszparagil-alanil-alanil-prolin-
-(izobutil-amid) előállítás

400 mg (0,7 mmól) N-acetil-aszparagil-
-alanil-alanil-prolin-(izobutil-amid)- β -benzil-
-észter, 0,5 ml ecetsav és körülbelül 50 mg
palládiumfekete 20 ml metanollal készített
oldatába 2 órán át hidrogént vezetünk,
utána a katalizátort kiszűrjük, metanollal
mossuk, és az oldatot vákuumban bepároljuk.
A nem kristályos maradékot 15 ml etil-
acetátban oldjuk, 12 órán át 3°C hő-
mérsékleten állni hagyjuk, majd a kivált
kristályos terméket szűrjük, előbb etil-ace-
táttal, utána petroléterrel mossuk, és súly-
állandóságig szárítjuk. Így 245 mg ho-
zammal kapjuk a cím szerinti terméket,
amelyet elemzés céljára izopropanolból és
etil-acetátból átkristályosítunk; op.: 127–131°C.
Elemanalízis a $C_{21}H_{35}N_5O_8 \cdot H_2O$ összegképlet
alapján ($M=487,6$):

számított: C 51,73; H 7,65; N 14,36%;
kapott: C 51,46; H 7,49; N 13,65%.

2. példa

N-(tercier-butoxi-karbonil)-aszparagil-
-alanil-alanil-prolin-(izobutil-amid)- β -benzil-
-észter előállítása

1,6 g (5 mmól) N-(tercier-butoxi-karbo-
nil)-aszparaginsav- β -benzil-észter és 1,56 g
(5 mmól) alanil-alanil-prolin-(izobutil-amid)
66 ml dimetil-formamiddal készült oldatához
1,1 g N,N'-diciklohexil-karbodiimidet adunk,
az elegyet 3 órán keresztül 0°C-on keverjük,
majd 12 órán át szobahőmérsékleten állni
hagyjuk, utána a kivált N,N'-diciklohexil-
-karbamidot kiszűrjük, dimetil-formamiddal
mossuk, és a szűrletet vákuumban bepároljuk.
A maradékot 60 ml diklór-metánban
oldjuk, és rendre kirázzuk előbb 1%-os
citromsavoldattal, utána 5%-os nátrium-
-hidrogén-karbonát oldattal, majd vízzel,
vízmentes nátrium-szulfáton megszáritjuk,
vákuumban bepároljuk, és benzol-tetrahidro-
furán elegyével azeotróposan desztillálva
megszáritjuk. A nem kristályos közti terméket
használjuk a következő lépés végre-
hajtásához.

Aszparagil-alanil-alanil-prolin-(izobutil-
-amid)- β -benzil-észter hidroklorid előállítása

A 2. példa előző lépésében készült ter-
mék 5 ml jégecettel készült oldatához 5 ml
2,9 mólos jégecetes hidrogén-klorid-oldatot
adunk, 3 órán át szobahőmérsékleten állni
hagyjuk, majd 150 ml éter hozzáadásával
kicsapjuk az így keletkezett hidrokloridot.
Az éteres fázist dekantáljuk, és a mara-
dékot exsikkátorban nátrium-hidroxid és
foszfor-pentoxid felett megszáritjuk. Így egy
nem kristályos, habszerű, kromatográfiásan
egységes terméket kapunk, amelynek R_f ér-
teke n-butanol/ecetsav/víz 4:1:1 arányú
elegyével kifejezve 0,30; n-butanol/ecetsav/
piridín/víz 15:3:10:6 arányú elegyével kifej-
lezve 0,80.

N-Butiril-aszparagil-alanil-alanil-prolin-
-(izobutil-amid)- β -benzil-észter előállítása.

A 2. példa előző lépésében kapott ter-
méket 20 ml vízben oldjuk, 5 ml tellített,
vizes nátrium-hidrogén-karbonát oldatot
adunk hozzá, 5°C-ra hűtjük, és 30 perc alatt
5 ml tetrahidrofuranban oldott 1 ml vaj-
savanhidridet csepegtetünk hozzá. Az ele-
gyet 30 percig keverjük hűtés közben, majd
a reakcióelegyet vákuumban bepároljuk, a
maradékot 10 ml forró etil-acetátban szusz-
pendáljuk, a kivált sót kiszűrjük, és 5 ml
etil-acetáttal mossuk. Az oldatot 12 órán át
állni hagyjuk, a kicsapódott kristályos ter-
méket kiszűrjük, előbb etil-acetáttal, majd
petroléterrel mossuk, és súlyállandóságig
szárítjuk. Így 350 mg hozammal kapjuk a
cím szerinti terméket, amelynek egy mintá-
ját elemzés céljából etil-acetátból átkris-
tályosítjuk; op.: 149–151°C.

Elemanalízis a $C_{30}H_{45}N_5O_8$ összegképlet alap-
ján ($M=587,7$):

számított: C 61,31; H 7,72; N 11,92%;
kapott: C 60,98; H 7,97; N 11,66%.

N-Butiril-aszparagil-alanil-alanil-prolin-
-(izobutil-amid) előállítása

A 2. példa előző lépésében kapott ter-
méket az 1. példában leírt módon hidro-
genolízisnek alávetve 76% hozammal jutunk
a cím szerinti termékhez, amelynek egy
mintáját elemzés céljára izopropanol és
etil-acetát elegyből átkristályosítjuk; op.:
180–183°C

Elemanalízis a $C_{12}H_{39}N_5O_7$ összegképlet alap-
ján ($M=497,6$):

számított: C 55,52; H 7,90; N 14,07%;
kapott: C 55,28; H 7,98; N 13,59%.

3. példa

N-(tercier-Butoxi-karbonil)-glutamil-
-alanil-alanil-alanil-(izobutil-amid)- α -benzil-
-észter előállítása

665 g (2 mmól) N-(tercier-butoxi-karbo-
nil)-glutaminsav- γ -benzil-észter és 573 mg
(2 mmól) alanil-alanil-alanil-(izobutil-amid)
15 ml formamiddal készült oldatához -20°C hő-
mérsékleten 440 mg N,N'-diciklo-hexil-karbo-
diimidet adunk, az elegyet 3 órán át 0°C-on
keverjük, majd 12 órán át szobahőmérsékleten
állni hagyjuk, a kicsapódott N,N'-diciklohexil-
-karbamidot kiszűrjük, dimetil-formamiddal
mossuk, és a szűrletet vákuumban bepároljuk.
A szilárd maradékot etil-acetátban
oldjuk, és rendre mossuk 1%-os citrom-
savoldattal, 5%-os nátrium-hidrogén-kar-
bonát oldattal, majd vízzel, és utána az
etil-acetátos oldatot vákuumban bepároljuk.
A maradékot 15 ml forró izopropanolban
oldjuk, és 150 ml petroléter hozzáadásával
kristályosítjuk. Így 670 mg (55%) hozam-
mal kapjuk a cím szerinti terméket, op.:
199–203°C.

Glutamil-alanil-alanil-alanil-(izobutil-
-amid)- γ -benzil-észter hidroklorid előállítása

A 3. példa előző lépésében kapott ter-
méket a 2. példában leírt módon acidolí-
zinek alávetve 69% hozammal kapjuk a

cím szerinti terméket, amelynek R_f értéke n-butanol/ecetsav/víz 4:1:1 arányú elegyével kifejelesztve 0,20; n-butanol/ecetsav/piridin/víz 15:3:10:6 arányú elegyével kifejelesztve 0,75.

N-(Kaproil)-glutamil-alanil-alanil-alanin-(izobutil-amid)- β -benzil-észter előállítás
360 mg (0,7 mmól) glutamil-alanil-alanil-alanin-(izobutil-amid)- β -benzil-észter hidroklorid, 10 ml tetrahidrofuran és 40 ml 2,5%-os nátrium-hidrogén-karbonát oldat 10°C-ra hűtött elegyhez két részletben 145 mg kaproil-klorid 2 ml tetrahidrofuranos oldatát csepegtetjük 15 perc alatt. Az elegyet 1 órán át keverjük, majd pH-értékét 1 mólos sósavoldat segítségével 4-re állítjuk, a tetrahidrofuránt vákuumban ledesztilláljuk, és a vizes oldat pH-értékét 2-re állítjuk. Ezután 12 órán át 3°C-on állni hagyjuk, a kivált kristályokat kiszűrjük, vízzel mossuk, és súlyállandóságig szárítjuk. Így 290 mg hozammal kapjuk a cím szerinti terméket, op.: 270–280°C. E termék egy mintáját elemzés céljából izopropanol és etil-acetát elegyből átkristályosítjuk, op.: 266–270°C. Elemanalízis a $C_{33}H_{53}N_5O_7$ összegképlet alapján ($M=631,8$):

számított: C 62,73; H 8,46; N 11,08%.
kapott: C 62,43; H 9,08; N 11,26%.

N-Kaproil-glutamil-alanil-alanil-alanin-(izobutil-amid) előállítás

A 3. példa előző lépésében kapott termék 1. példában leírt módon végzett hidrogenolízisével 62% hozammal jutunk a cím szerinti termékhez, op.: 224–227°C.

4. példa

N-(2-Dodecenil-szukcinil)-alanil-alanil-alanin-(etil-amid) előállítás

520 mg (2 mmól) alanil-alanil-alanin-(etil-amid) és 10 ml dimetil-formamid oldatához 1,05 g 2-dodecenil-borostyánkősav-anhidridet adunk, és az elegyet egy órán át 70°C-on melegítjük, majd a dimetil-formamidot vákuumban lepároljuk, és a maradékot petroléterrel kicsapjuk. Izopropanol és petroléter keverékéből való átkristályosítás után a cím szerinti terméket 72% hozammal kapjuk, op.: 225–229°C. Egy mintát elemzés céljára ismételtlen átkristályosítva az op.: 231–234°C-ra emelkedik, R_f -értéke n-butanol/ecetsav/víz 4:1:1 arányú elegyével kifejelesztve 0,73; n-butanol/ecetsav/piridin/víz 15:3:10:6 arányú elegyével kifejelesztve 0,78; $[\alpha]_D^{20}$ -4,08° ($c=0,2$, dimetil-formamid). Elemanalízis a $C_{27}H_{48}N_4O_6$ összegképlet alapján ($M=524,7$)

számított: C 61,81; H 9,22; N 10,68%.
kapott: C 61,92; H 9,40; N 10,28%.

5. példa

N-(2-Dodecenil-szukcinil)-alanil-alanil-alanin-(prolin-amid) előállítás

E vegyületet a 4. példában leírt etil-amidhoz hasonlóan állítjuk elő 66% hozammal. A termék egy mintáját elemzés céljára izopropanol és petroléter elegyből átkristályosítjuk, op.: 97–99°C; $[\alpha]_D^{20}$ -48,8° ($c=0,2$, dimetil-formamid).

Elemanalízis a $C_{30}H_{52}N_4O_6 \cdot 1/2H_2O$ összegképlet alapján ($M=573,8$):

számított: C 62,80; H 9,31; N 9,76%.
kapott: C 62,97; H 9,75; N 9,75%.

6. példa

N-(Benzil-oxi-karbonil)-glutamil-alanil-alanil-prolin-(etil-amid) előállítás

600 mg (2 mmól) alanil-alanil-prolin-(etil-amid) és 10 ml dimetil-formamid oldatához 600 mg (2,4 mmól) N-(benzil-oxi-karbonil)-glutaminsav-anhidridet adunk, és utána az elegyet egy órán át 60°C-on melegítjük, majd vákuumban bepároljuk, a nem kristályos maradékot 30 ml etil-acetáttal átkeverjük, és 12 órán át 3°C hőmérsékleten állni hagyjuk. A kristályosan kivált terméket szűrjük, etil-acetáttal és petroléterrel mossuk. Így 1,1 g hozammal jutunk a cím szerinti termékhez, op.: 75–80°C. E termék egy mintáját elemzés céljára etil-acetát és petroléter elegyből átkristályosítjuk, op.: 101–103°C.

Elemanalízis a $C_{26}H_{37}N_5O_8 \cdot 3H_2O$ összegképlet alapján ($M=601,6$)

számított: C 51,91; H 7,20; N 11,64%.
kapott: C 52,31; H 6,98; N 11,57%.

7. példa

N-(Benzil-oxi-karbonil)-glicil-alanil-alanil-prolin-(izobutil-amid) előállítás

7,84 g (28 mmól) N-(benzil-oxi-karbonil)-glicil-alanin, 3,92 g N-hidroxi-benzotriazol, 50 ml kloroform és 30 ml dimetil-formamid -5°C-ra hűtött oldatához 6,61 g N,N'-diciklohexil-karbodiimidet adunk, és utána az elegyet 2 órán át 0°C-on, majd 3 órán át szobahőmérsékleten keverjük, majd a kicsapódott N,N'-diciklohexil-karbamidot kiszűrjük, a szűrletet vákuumban bepároljuk, a maradékot butanolban oldjuk, és rendre 1%-os citromsavoldattal, 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk, a szerves fázist vízmentes nátrium-szulfáton szárítjuk, és vákuumban bepároljuk. A maradékot etil-acetáttal átkristályosítva a cím szerinti terméket 4,5 g (37%) hozammal kapjuk. Egy mintát elemzés céljára etil-acetáttal ismételtlen átkristályosítunk, op.: 135–137°C; $[\alpha]_D^{20}$ -72,7° ($c=0,2$, dimetil-formamid). Elemanalízis a $C_{22}H_{32}N_4O_5$ összegképlet alapján ($M=432,5$):

számított: C 61,09; H 7,46; N 12,95%.
kapott: C 60,91; H 7,57; N 12,85%.

N-Acetil-aszparagil-glicil-alanil-prolin-(izobutil-amid)- β -benzil-észter előállítás

E vegyületet az 1. példában leírt N-acetil-tetrapeptidhez hasonló módon állítjuk elő 52% hozammal, op.: 185–190°C.

N-Acetil-aszparagil-glicil-alanil-prolin-(izobutil-amid) előállítása

E vegyületet az 1. példában leírt N-acetil-tetrapeptid-(izobutil-amid)-hoz hasonló módon állítjuk elő, op.: 142—146°C.

8. példa

N-(tercier-Butoxi-karbonil)-aszparagil-alanil-alanil-prolin-(etil-amid)-β-benzil-észter előállítása

E vegyületet a 7. példában leírt eljárás-hoz hasonló módon N-(tercier-butoxi-karbonil)-aszparaginsavból és alanil-alanil-prolin-(etil-amid)-β-benzil-észterből a karbodiimid-módszerrel állítjuk elő 68% hozammal. R_f-értéke n-butanol/ecetsav/víz 4:1:1 arányú elegyével kifejezve 0,75.

N-Undekanoil-aszparagil-alanil-alanil-prolin-(etil-amid) előállítása

E vegyületet a 3. példában leírt izobutil-amidhoz hasonlóan állítjuk elő, azzal a különbséggel, hogy az acilezéshez undekanoil-kloridot használunk. Elemzés céljára egy mintát vízből átkristályosítunk, op.: 184-189°C. Az aminosavelemzés eredménye: aszparaginsav (1,02), prolin (1,04) és alanin (1,97). Elemanalízis a C₂₈H₅₀N₅O₇·H₂O összegképlet alapján (M=586,8)

számított: C 57,32; H 8,93; N 11,93%;
kapott: C 56,94; H 8,55; N 11,80%.

9. példa

N-(Benzil-oxi-karbonil)-prolil-alanil-alanin-(etil-amid) előállítása

E vegyületet a 7. példában leírt eljárás-hoz hasonlóan N-(benzil-oxi-karbonil)-prolil-alaninból és alanin-(etil-amid)-ból a karbodiimid módszerrel állítjuk elő. Elemzés céljára egy mintát izopropanol és etil-acetát elegyéből átkristályosítunk, op.: 219-220°C; [α]_D²⁰ -36,2° (c=0,2, dimetil-formamid). Elemanalízis a C₂₁H₃₀N₄O₅ összegképlet alapján (M=418,5):

számított: C 60,27; H 7,23; N 13,39%;
kapott: C 60,08; H 7,41; N 13,22%.

N-(tercier-Butoxi-karbonil)-aszparagil-prolil-alanil-alanin-(etil-amid)-β-benzil-észter előállítása

2

E vegyületet a 2. példában leírt, megfelelő izobutil-amidhoz hasonló módon állítjuk elő. Egy mintát elemzés céljára etil-acetát és petroléter elegyéből átkristályosítunk, op.: 133—136°C; [α]_D²⁰ -61,1° (c=0,2, metanol).

Elemanalízis a C₂₉H₄₃N₅O₈ összegképlet alapján (M=589,6):

számított: C 59,08; H 7,35; N 11,88%;
kapott: C 58,78; H 7,21; N 11,38%.

Aszparagil-prolil-alanil-alanin-(etil-amid)-β-benzil-észter hidroklorid előállítása

E vegyületet a 2. példában leírt, megfelelő izobutil-amidhoz hasonló módon állítjuk elő. Elemzés céljára egy mintát metanolból és éterből átkristályosítunk, op.: 189—193°C. Elemanalízis a C₂₄H₃₄N₅O₆·HCl·H₂O összegképlet alapján (M=543,0):

számított: C 52,99; H 7,04; N 12,87%;
kapott: C 52,83; H 6,74; N 13,01%.

N-Acetil-aszparagil-prolil-alanil-alanin-(etil-amid)-β-benzil-észter előállítása

E vegyületet a butirilszármazékhöz hasonló módon állítjuk elő, azzal a különbséggel, hogy az acilezést ecetsavanhidriddel végezzük. Elemzés céljára egy mintát etil-acetát és petroléter elegyéből átkristályosítunk, op.: 191—193°C; [α]_D²⁰ -68,5° (c=0,2, metanol). Elemanalízis a C₂₆H₃₇N₅O₇ összegképlet alapján (M=531,52):

számított: C 58,75; H 7,02; N 13,18%;
kapott: C 58,85; H 6,98; N 13,01%.

N-Acetil-aszparagil-prolil-alanil-alanin-(etil-amid) előállítása

E vegyületet az 1. példában leírt acetilszármazékhöz hasonló módon, a megfelelő β-benzil-észter hidrogenolízisével állítjuk elő, op.: 153—155°C (143°C-on zsugorodik).

A patkányok bal talpán 100 μg sertéshasnyálmirigy-elasztáz szubkután befecskendezésével ödémát váltottunk ki. A gátló anyagokat az elasztáz beadása előtt 30 perccel az állatok hátán szubkután úton adagoltuk.

2. Táblázat

A kísérleti úton előidézett patkánytalp-ödéma gátlása

| A gátló anyag | Mennyiség mg | A gátlás biztonsági valószínűsége | |
|---------------------------|-----------------|-----------------------------------|-------|
| | | 2 óra | 3 óra |
| UDA-Asp-Ala-Ala-Pro-NH-Et | 5 | 0,32 | 0,11 |
| Dde-Ala-Ala-Pro-NH-Pr | 20 | 0,26 | 0,46 |
| Dde-Ala-Ala-Pro-NH-Pr | 5 | 0,11 | 2,28 |

A táblázatban használt rövidítések:

UDA = undekanoil;

Et = etil;

Dde = 2-dodecenil-szukcinil és

Pr = propil.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás az (I) általános képletű, biológiailag hatásos tri- és tetrapeptid-alkil-amid-származékok előállítására — ahol az (I) képletben

R^1 jelentése 1—5 szénatomos alkilcsoport;
A jelentése peptidkötésben lévő alanin- vagy prolincsoport;

B jelentése peptidkötésben lévő glicin-, alanin- vagy prolincsoport;

n értéke 1 vagy 2; és

R^2 jelentése 1-12 szénatomos (alkil-karbonil)-amino-csoport vagy dodecenilcsoport vagy (benzil-oxi-karbonil-amino)-csoport,

azzal jellemezve, hogy

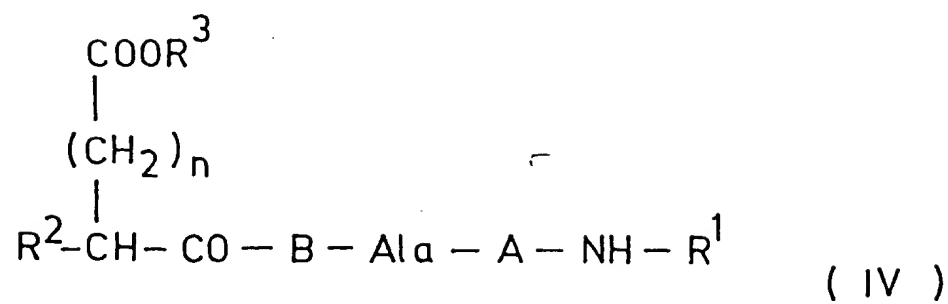
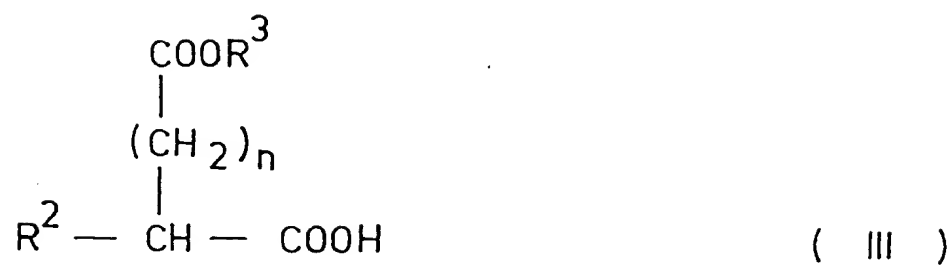
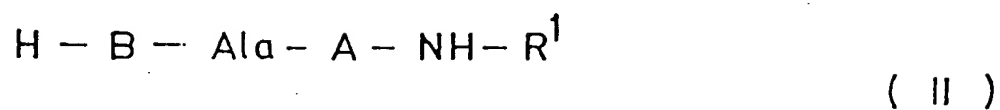
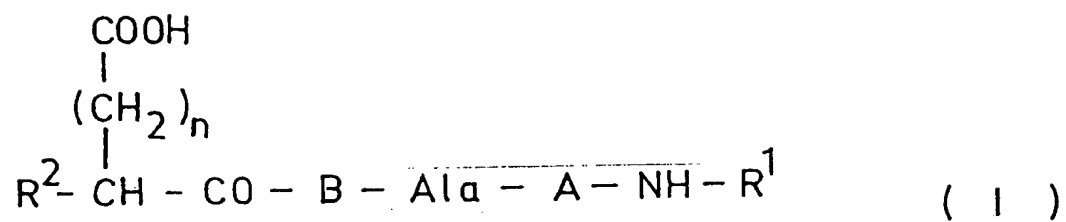
a) egy (II) általános képletű vegyületet — ahol R^1 , A és B jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben — egy (III) általános képletű vegyülettel — amelyben R^2 és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, és R^3 1—4 szénatomos alkilcsoportot vagy 7 szénatomos aralkilcsoportot jelent — kondenzálunk, majd az így kapott (IV) általános képletű vegyületből, amelyben R^1 , R^2 , A, B és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, és R^3 jelentése ugyanaz, mint a (III) általános képletben — az R^3 védőcsoportot eltávolítjuk.

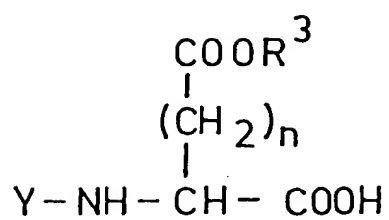
2. Eljárás az 1. igénypont szerinti (I) általános képletű biológiailag hatásos tri-

és tetrapeptid-alkil-amid-származékok előállítására — ahol R^1 , A, B és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, és R^2 jelentése a fentiekben meghatározott

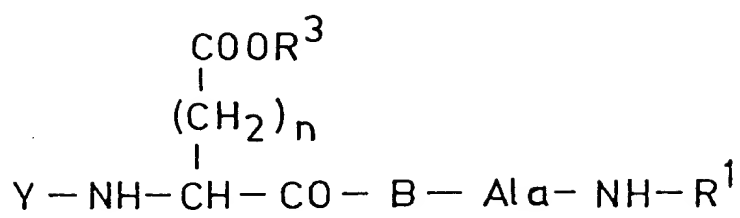
(alkil-karbonil-amino)- vagy (benzil-oxi-karbonil-amino)-csoport, *azzal jellemezve*, hogy egy (II) általános képletű vegyületet — amelyben R^1 , A és B jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben — egy (V) általános képletű vegyülettel — amelyben R^3 és n jelentése ugyanaz, mint a (III) általános képletben, és Y védőcsoportot jelent — kondenzálunk, az így kapott (VI) általános képletű vegyületből, ahol R^1 , A, B és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, R^3 jelentése ugyanaz, mint a (III) általános képletben, és Y jelentése ugyanaz, mint az (V) általános képletben, az Y védőcsoportot eltávolítjuk, és az így nyert közbelső terméket egy (VII) általános képletű vegyületet — amelyben R^2 jelentése a dodecenilcsoportot kivéve ugyanaz, mint az (I) általános képletben — reakcióképes karbonsavszármazékával, előnyösen az anhidridjével, halogenidjével vagy észterével reagáltatjuk.

3. Eljárás az 1. igénypont szerinti (I) általános képletű biológiailag hatásos tri- és tetrapeptid-alkil-amid-származékok előállítására, *azzal jellemezve*, hogy egy (II) általános képletű vegyületet — ahol R^1 , A és B jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben — egy (VIII) általános képletű vegyülettel — amelyben R^2 és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben — előnyösen annak anhidridje, monohalogenidje vagy észtere alakjában kondenzálunk.

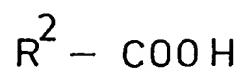




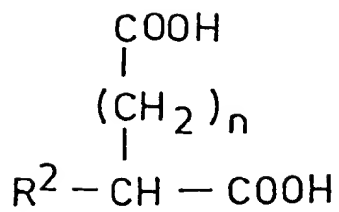
(V)



(VI)



(VII)



(VIII)